

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A MYENTERICUS PLEXUST ELLÁTÓ KAPILLÁRISOK  
DIABÉTESSZEL ÖSSZEFÜGGŐ STRUKTURÁLIS, MOLEKULÁRIS  
ÉS FUNKCIONÁLIS VÁLTOZÁSAI STREPTOZOTOCIN-INDUKÁLT  
DIABÉTESZES PATKÁNYBAN**

**Bódi Nikolett**

Témavezetők:

Dr. Fekete Éva  
egyetemi tanár

Dr. Bagyánszki Mária  
egyetemi adjunktus

Biológia Doktori Iskola  
Szegedi Tudományegyetem  
Természettudományi és Informatikai Kar  
Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék



Szeged

2011

## Bevezetés

A bélcsatorna különböző feladatainak szabályozását egy komplex idegi hálózat, a bélidegrendszer végzi. A bélidegrendszert felépítő neuronok és gliasejtek ganglionált plexusokat hoznak létre, így biztosítják a felszívás, a szekréció és a bélperisztaltika összehangolt működését. A nitrerg myentericus neuronok, melyek a perisztaltikus reflex leszálló gátlását szabályozzák, különösen érintettek a diabétesz során kialakuló neuropátiában. A nitrerg innerváció sérülése meghatározó a diabéteszes betegek több mint 75%-át érintő gasztrointesztinális motilitási rendellenességek kialakulásában.

Kutatócsoportunk nemrégiben bizonyította, hogy a bélcsatorna különböző szakaszaiban levő nitrerg myentericus neuronok diabétesz hatására különböző mértékben sérülnek, és az azonnali inzulinkezelésre is eltérően reagálnak. Feltételezésünk szerint a bélszakaszfüggő diabéteszes nitrerg neuropátia hátterében a különböző bélszakaszokban levő neuronok eltérő mikrokörnyezete állhat.

Ezért munkánk során kísérletesen indukált krónikus diabéteszes patkányok különböző bélszakaszaiban tanulmányoztuk a myentericus ganglionok közelében futó mesenterialis kapillárisok diabétesszel összefüggő patológiás változásait. Az elmúlt években sok adat gyűlt össze a retina, a vese glomerulusok vagy a tüdő kapillárisok endotheliumának diabéteszt kísérő sérüléséről, azonban a diabétesz hatását a bélfal kapillárisainak endotheliumában szinte egyáltalán nem

tanulmányozták. Ezen kapillárisok endotheliumának működészavara pedig potenciális alapja lehet az entericus neuropátia kialakulásának.

Az irodalmi adatok egyértelműen azt bizonyítják, hogy a diabétesz során kialakuló endothelialis működészavar elsődleges kiváltó tényezője a hyperglykaemia, melynek hatása az erek méretétől és anatómiai helyzetétől függően különbözhet. A hyperglykaemia hatására a retinában és a veseglomerulusokban is megvastagodik az ereket körülvevő bazális membrán (BM), fokozódik az extracelluláris mátrix komponensek mennyisége, valamint a kapillárisok permeabilitása is. Irodalmi adatokból tudjuk, hogy a hyperglykaemia következtében kialakuló oxidatív stressz és a vele együtt járó ischaemiás állapotok mind hozzájárulnak a patológiás folyamatok kialakulásához. A reaktív oxigén származékok fokozott képződése és a biológiai folyamatokhoz szükséges nitrogén-monoxid mennyiségének csökkenése az endothelium szabályozó funkciójának súlyos sérüléséhez vezet.

## Célkitűzések

Munkánk során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a myentericus ganglionok közelében futó mesenterialis kapillárisok támadáspontjai-e a diabéteszt kísérő patológiás folyamatoknak:

- Változik-e a véredényeket körülvevő BM vastagsága és endotheliumtól való távolsága a diabéteszes állatokban?
- Hatással van-e a diabétesz a kapilláris endothelium integritására, a szomszédos endothelsejtek közötti szoros sejtkapcsolatok (TJk) állapotára?
- Milyen hatással van a diabétesz a transzcitózisban fontos szerepet játszó endothelialis caveolák denzitására?
- Hogyan változik az endothelsejtek szérum albumin felvétele és az albumin interstitiumba történő transzportja a hyperglykaemia hatására?
- Hatással van-e a hyperglykaemia az endothelialis nitrogén-monoxid szintáz (eNOS) és a Caveolin-1 (Cav-1) expressziójára?
- Megfigyelhetők-e a kapilláris endotheliumban bélszakasz-specifikus patológiás változások?
- Az azonnali inzulin-kezelés megakadályozza-e a kapillárisfal diabéteszt kísérő sérüléseit?

## **Anyagok és vizsgálati módszerek**

A myentericus ganglionok közelében futó kapillárisok endothelsejtjeinek diabétesszel összefüggő strukturális, molekuláris és funkcionális változásait kontroll, streptozotocinnal indukált diabéteszes és inzulin-kezelt diabéteszes patkányok különböző bélszakaszaiban, a következő módszerekkel vizsgáltuk:

- Transzmissziós elektronmikroszkópos morfometria
  - BM morfológiai vizsgálata
  - vezikuláris kompartmentek denzitásának vizsgálata
  - TJk morfológiai vizsgálata
- Kvantitatív posztembedding immunhisztokémia
  - albumin
  - Cav-1
  - eNOS
- Kvantitatív RT-PCR
- Western blot analízis

## Eredmények

Diabéteszes állatokban a kapillárisok endothelsejtjeinek strukturális változásai regionális különbségeket mutattak a bélcsatorna hossz tengelye mentén. A diabéteszes állatok colonjában és ileumában a kapillárisok körüli BM megvastagodott és elvált az endotheliumtól, a caveoláris kompartmentek hipertrofizáltak, az endothelsejtek közötti nyitott TJk száma megnőtt.

A diabéteszes patkányok duodenumában azonban, bár a szomszédos endothelsejtek közötti távolság megnőtt, sem a BM morfometriai paraméterei, sem a caveolák kvantitatív tulajdonságai nem mutattak szignifikáns változást a kontroll állatok duodenumában mért értékekhez képest.

A colon kapillárisaiban az endothelsejtek strukturális változásai irreverzibilisek voltak, az endothelium sérülése az inzulin-kezelés mellett is tovább fokozódott. Az ileum kapillárisaiban azonban az endothelsejtek strukturális változásai inzulin-kezelés hatására visszafordíthatóak voltak.

A diabéteszes állatok minden bélszakaszában, az endothelsejtekben és az interstitiumban is növekedett az albumint jelölő arany szemcsék száma. A diabéteszes állatok colonjában a kapilláris endotheliumban, míg az ileum kapillárisai esetében az interstitiumban volt kifejezettebb az arany szemcsék számának növekedése. A diabéteszes patkányok duodenumában az

aranszemcsék mennyisége mindkét kompartmentben ugyanolyan mértékben növekedett.

A colon kapillárisaiban az inzulin-kezelés ellenére sem változott az albumint jelölő aranszemcsék egyenlőtlen eloszlása a két kompartment között. Az ileum kapillárisaiban azonban az inzulin-kezelés mellett a szemcsék eloszlása egyensúlyban volt.

A diabéteszes patkányok duodenumában posztembedding immunhisztokémia után a Cav-1-et és az eNOS-t jelölő aranszemcsék száma is megnőtt az endothelsejtekben. Molekuláris vizsgálatokkal igazoltuk, hogy a diabéteszes állatok duodenumában a Cav-1 mRNS és fehérje szint is növekedett, amit az eNOS transzkripciójának fokozódása és a fehérje-expresszió csökkenése kísért. A diabéteszes patkányok colonjából és ileumából nyert szövethomogenizátumokban azonban sem a Cav-1, sem az eNOS esetében nem tudtunk kimutatni molekuláris szintű változásokat.

Az inzulin-kezelés megakadályozta a duodenumban tapasztalt expressziós változásokat, valamint szignifikánsan csökkentette a Cav-1 és az eNOS expressziót a colonból készült szövethomogenizátumokban.

## Eredmények megbeszélése

Eredményeink alapján feltételezzük, hogy a mesenterialis kapillárisok endotheliumának diabétesszel összefüggő patológiás változásai a colon-ileum-duodenum tengely mentén fokozatosan, több lépésben alakulnak ki. A colon kapillárisaiban a hyperglykaemia kiváltását követő azonnali inzulin-kezelés mellett is irreverzibilis strukturális és funcionális változások alakultak ki. Az ileum kapillárisainak diabéteszes károsodása azonban az inzulin-kezelés hatására visszafordítható volt. A tengely legtávolabbi pontján, a diabéteszes állatok duodenumában, a kapillárisok körüli BM és a caveolák morfometriai paraméterei, valamint az albumin molekulamegoszlása sem mutatott szignifikáns eltérést a kontroll értékektől.

Eredményeink választ adnak a célkitűzéseinkben megfogalmazott kérdésekre. Morfológiailag, funkcionálisan és molekuláris szinten is bizonyítottuk, hogy a myentericus ganglionokat ellátó kapillárisok közvetlen célpontjai a diabéteszes károsodásnak. Diabétesz során a különböző bélszakaszokban levő mesenterialis erek különböző mértékben sérülnek, és szigorúan régió-specifikus módon biztosítják a neuronok mikrokörnyezetét, amely azután vagy megengedi, vagy megakadályozza a neuronok életben maradását.



### ***Az értekezéshez kapcsolódó publikációk***

- N. Bódi**, P. Talapka, M. Poles, E. Hermes, Zs. Jancsó, Z. Katarova, F. Izbéki, T. Wittmann, É. Fekete, M. Bagyánszki (2011) *The endothelium of capillaries supplying the myenteric plexus are direct targets of diabetic damage*. Microcirculation (under revision) IF: 2.533
- M. Bagyánszki, **N. Bódi** (2011) *Diabetes-related alterations in the enteric nervous system and its microenvironment*. World Journal of Diabetes (submitted)
- P. Talapka, **N. Bódi**, I. Battonyai, É. Fekete, M. Bagyánszki (2011) *Subcellular distribution of nitric oxide synthase isoforms in the rat duodenum*. World Journal of Gastroenterology 17(8):1026-1029. IF: 2.240
- N. Bódi**, I. Battonyai, P. Talapka, É. Fekete, M. Bagyánszki (2009) *Spatial pattern analysis of nitrergic neurons in the myenteric plexus of the duodenum of different mammalian species*. Acta Biologica Hungarica 60(4), pp. 347-358. IF: 0.793
- F. Izbéki, T. Wittmann, A. Rosztóczy, N. Linke, **N. Bódi**, É. Fekete, M. Bagyánszki (2008) *Immediate insulin treatment prevents gut motility alterations and loss of nitrergic neurons in the ileum and colon of rats with streptozotocin-induced diabetes*. Diabetes Research Clinical Practise 80(2):192-198. IF: 2.134

### ***Az értekezéshez nem kapcsolódó, egyéb publikációk***

- M. Bagyánszki, Z. Novák, **N. Bódi**, H. Orvos, A. Pál, É. Fekete (2009) *Structural differences in the umbilical vein wall after full-term and preterm delivery*. *Anatomia, Histologia, Embryologia* 38:387–391. IF: 0.646
- N. Linke, **N. Bódi**, B.A. Resch, É. Fekete, M. Bagyánszki (2008) *Developmental pattern of three vesicular glutamate transporters in the myenteric plexus of the human fetal small intestine*. *Histology and Histopathology* 23(8):979-986. IF: 2.502
- M. Krecsmarik, F. Izbéki, M. Bagyánszki, N. Linke, **N. Bódi**, J. Kaszaki, Z. Katarova, Á. Szabó, É. Fekete, T. Wittmann (2006) *Chronic ethanol exposure impairs neuronal nitric oxide synthase in the rat intestine*. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 30(6): 967-973. IF: 3.468

### ***Nyomtatásban megjelent, impakt faktorral rendelkező konferencia kivonatok***

- N. Bódi**, P. Talapka, M. Poles, M. Bagyánszki, A. I. Rosztóczy, É. Fekete, F. Izbéki, T. Wittmann (2011) Diabetes-related structural, molecular and functional alterations in capillaries supplying to the myenteric plexus can be responsible for the region-specific nitrergic neuropathy in the gut of streptozotocin-induced diabetic

rats. 19<sup>th</sup> United European Gastroenterology Week, Stockholm, Sweden.

Gut 60 (Suppl 3) A313 IF: 10,614

R. Á. Nagy, **N. Bódi**, P. Talapka, M. Bagyánszki, É. Fekete, T. Wittmann, F. Izbéki (2011) Effects of acute and chronic quinolinic acid treatment on gastrointestinal motility in mice. 19<sup>th</sup> United European Gastroenterology Week, Stockholm, Sweden.

Gut 60 (Suppl 3) A313 IF: 10,614

**N. Bódi**, P. Talapka, M. Bagyánszki, A. I. Rosztóczy, É. Fekete, F. Izbéki, T. Wittmann (2010) The role of structural capillary damage in the loss of nitrergic myenteric neurons in a rat model of diabetes mellitus. 18<sup>th</sup> United European Gastroenterology Week, Barcelona, Spain.

Gut 59 (Suppl III) A91 IF: 10,614

**N. Bódi**, P. Talapka, M. Bagyánszki, A. Rosztóczy, É. Fekete, T. Wittmann, F. Izbéki (2010) Intestinal endothelial dysfunction may have a role in the development of myenteric nerve damage in a rat model of diabetes mellitus. Magyar Gasztroenterológiai Társaság 52. Nagygyűlése, Tihany, Magyarország.

Z Gastroenterol 48:598-599 IF: 1,131

*Teljes közlemények impakt faktora: 11,783*

*Összesített impakt faktor: 44,756*